



مقاله پژوهشی

مطالعه اثر غلظت‌های تحت‌کشنده علف‌کش پاراکوات بر بافت و شاخص‌های کلیوی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*)

امید کوهکن^{۱*}

DOI: 10.22124/japb.2023.24617.1498

تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۲

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۲

چکیده

با توجه به حلالیت بالا و استفاده مکرر از پاراکوات مقادیر زیادی از آن می‌تواند از طریق رواناب به آب‌های سطحی نفوذ کند و اثرات مخربی برای موجودات زنده داشته باشد. از این رو، در مطالعه حاضر به بررسی اثرات تحت‌کشنده پاراکوات بر بافت کلیه و شاخص‌های عملکردی آن شامل کراتینین، اوره و اسید اوریک در ماهی بنی پرداخته شد. تعداد ۴۰ قطعه ماهی بنی در ۴ تیمار ۰ (شاهد، t_0)، ۲۵ (t_1)، ۵۰ (t_2) و ۷۵ (t_3) درصد غلظت‌کشنده (به ترتیب ۰، ۰/۳۸، ۰/۷۶ و ۱/۱۴ میلی‌گرم در لیتر) پاراکوات تقسیم‌بندی شدند. پس از ۹۶ ساعت مواجهه، نمونه‌برداری از بافت کلیه برای مطالعات بافتی و سرم خون برای بررسی تغییرات شاخص‌های عملکردی کلیه انجام گرفت. صدماتی مانند چروکیدگی گلوبول و توپول‌های کلیوی، پرخونی، تخریب اپیتلیوم توپول‌ها، اتساع فضای ادراری و کاهش قطر لومن توپول‌های ادراری در مواجهه با پاراکوات دیده شد. کراتینین در گروه‌های t_2 و t_3 و اسید اوریک در گروه t_1 نسبت به گروه شاهد تغییرات معنادار نشان داد ($P < 0.05$). پاراکوات با افزایش غلظت، صدمات شدیدتر و گسترده‌تری را در بافت کلیه ایجاد کرد. نتایج نشان دهنده تخریب شدید بافت کلیه در گروه t_3 بود که در نتیجه آن کراتینین نیز افزایش نشان داد.

واژگان کلیدی: پاراکوات، ماهی بنی، کلیه، غلظت تحت‌کشنده.

۱- استادیار گروه زیست‌دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.

* نویسنده مسئول: O.kohkan@cmu.ac.ir

مقدمه

آب‌های سطحی نفوذ کند و اثرات مخربی برای موجودات زنده داشته باشد (Marin-Morales et al., 2013). همچنین به عنوان علف‌کش غیرانتخابی به طور گسترده برای کنترل علف‌های هرز آبی استفاده می‌شود (Chia et al., 1982). پاراکوات پس از ورود به اکوسیستم‌های آبی در نهایت در بدن ماهی و موجودات آبی دیگر تجمع پیدا می‌کند و می‌تواند بر میزان بقا، رشد و تولیدمثل آنها تاثیر بگذارد (Rahman et al., 2002). مسمومیت ناشی از پاراکوات عموماً با ایجاد تغییرات در آبشش، کلیه و کبد مشخص می‌شود (Di Marzio and Tortorelli, 1994).

به دنبال مسمومیت با پاراکوات، واکنش ردوکس که شامل واکنش‌های کاهش-اکسایش است، انتقال الکترون در میتوکندری را مختل کرده، تعداد زیادی رادیکال آزاد اکسیژن تولید می‌کند و باعث آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو می‌شود (Cocheme and Murphy, 2008; Tsai et al., 2013). گزارش شده است که در ماهی، پاراکوات فعالیت چندین آنزیم را تغییر می‌دهد و می‌تواند بر انقباض قلب، سرپوش آبششی و رشد جنینی تاثیر بگذارد (Gao et al., 2020). پاراکوات

آفت‌کش‌ها همزمان با افزایش فعالیت‌های مرتبط با کشاورزی و صنعتی شدن به طور روزافزون مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این امر منجر به انتشار شدید آنها به محیط می‌شود. پاراکوات (PQ) دومین علف‌کش پرمصرف در جهان است که برای کنترل علف‌های هرز به کار می‌رود (He et al., 2012). این علف‌کش با نام‌های تجاری مختلف در حدود ۱۰۰ کشور توسعه یافته و در حال توسعه به فروش می‌رسد، با این حال، از سال ۲۰۰۷ به کارگیری آن در کشورهای اتحادیه اروپا ممنوع شده است (Dinis-Oliveira et al., 2008). میزان مرگ و میر ناشی از مسمومیت با پاراکوات عمدتاً به دلیل آسیب حاد ریه و فیبروز پیشرونده ریوی به ۶۰ تا ۸۰ درصد می‌رسد (Bonilla et al., 2006; Dinis-Oliveira et al., 2008). این علف‌کش در غلظت‌های پایین نیز می‌تواند اثرات مضرى مانند آسیب سیتوژنتیک، اثرات فیزیولوژیکی و حتی مرگ را برای گونه‌های غیرهدف در معرض خطر ایجاد کند (Dinis-Oliveira et al., 2008). با توجه به حلالیت بالا و استفاده مکرر از پاراکوات در مناطق کشاورزی و غیرکشاورزی مانند باغبانی، مقادیر زیادی از پاراکوات می‌تواند از طریق رواناب به

آبزی پروری بوده و مورد اقبال صنایع آبزی پروری قرار گرفته است. از این رو، در این مطالعه به بررسی اثرات سمی پاراکوات بر کلیه و شاخص‌های عملکردی آن شامل کراتینین، اوره و اسید اوریک در ماهی بنی (*B. sharpeyi*) پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش

تعداد ۴۰ قطعه ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) با میانگین وزنی ($9/58 \pm 0/36$ گرم) از موسسه تحقیقات آبزیان ماهشهر تهیه و به آزمایشگاه دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل شد. ماهی‌ها پس از یک هفته سازگاری با شرایط آزمایشگاه به ۴ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. مخازن حاوی آب لوله کشی بدون کلر ($7/2-7/8$ pH) در دمای ثابت 26 ± 1 درجه سانتی‌گراد بود. غذادهی با جیره پایه تجاری (پرتونار، ایران) در طول سازگاری به میزان ۲ درصد از وزن بدن در ساعت ۱۰ صبح انجام شد. از پاراکوات (۱، ۱-دی‌متیل ۴، ۴-بی‌پیریدینیم دی‌کلرید، پرتونار، ایران) برای تهیه محلول‌های آزمایشی استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا محلول ذخیره ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در یک بالن حجمی با استفاده از آب مقطر تهیه و سپس

ابتدا وارد کلیه می‌شود و در آنجا بالاترین غلظت را دارد. در نتیجه عملکرد کلیه را مختل می‌کند. سپس با توجه به عدم دفع توسط کلیه، درگیر شدن اندام‌های دیگر مانند کبد، قلب و ریه منجر به نارسایی چند اندام می‌شود (Cocheme and Murphy, 2008; Ienaga and Yokozawa, 2011). کراتینین محصول تجزیه کراتین است که با سرعت ثابتی تجزیه می‌شود. هنگامی که عملکرد کلیوی مختل شود، مقادیر زیادی کراتینین انباشته و متابولیزه می‌شود (Tortorelli et al., 1990; Ienaga et al., 2014). بنابراین، مواد سمی موجود در محیط‌های آبی می‌توانند به طور غیرمستقیم رشد ماهی‌ها را با کاهش در دسترس بودن غذا یا به طور مستقیم با تغییر متابولیسم آنها تحت تاثیر قرار دهند (Ensibi et al., 2013). ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) یکی از گونه‌های با ارزش اقتصادی و منبع مناسب پروتئین بوده و به دلیل فراوانی نسبی آن در آب‌های شیرین بویژه آب‌های داخلی ایران شامل کارون و بهمنشیر، هزینه ارزان و سهولت پرورش آن، مورد توجه قرار داشته است و به راحتی با شرایط آزمایشگاهی سازگار می‌شود. بنابراین، یک مدل عالی را برای مطالعات اکوتوکسیکولوژیک ارائه می‌دهد. این گونه یکی از گونه‌های هدف برای

میخک (۵ گرم در لیتر) (Koohkan et al., 2024) از ساقه دمی انجام گرفت و بلافاصله به مدت ۱۰ دقیقه و در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (پویان طب، ایران) شد و سرم جدا شده تا زمان انتقال به آزمایشگاه در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سرم جداسازی شده به منظور بررسی عملکرد کلیه و سنجش مقادیر کراتینین، اسید اوریک و اوره به روش طیف‌سنجی با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Vis, Shimadzu, UV1800, ژاپن) با استفاده از دستور العمل کارخانه تولید کننده کیت سنجش انجام شد.

آنالیز آماری

تفاوت‌های آماری بین گروه‌های مختلف با آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ بررسی شد (Koohkan et al., 2024) و نتایج به دست آمده به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شد.

نتایج

در مقاطع بافتی کلیه ماهیان بنی در گروه شاهد، هیچ‌گونه آسیب بافتی جدی در

مقادیر مناسبی از محلول ذخیره به آکواریوم‌ها اضافه شد. سه گروه از ماهیان با غلظت‌های ۲۵ (t_۱)، ۵۰ (t_۲) و ۷۵ (t_۳) درصد غلظت کشنده (به ترتیب ۰/۳۸، ۰/۷۶ و ۱/۱۴ میلی‌گرم در لیتر) به مدت ۹۶ ساعت مواجهه شدند. گروه چهارم (t_۰) به عنوان شاهد از پاراکوات دور نگه داشته شد.

مطالعات بافتی

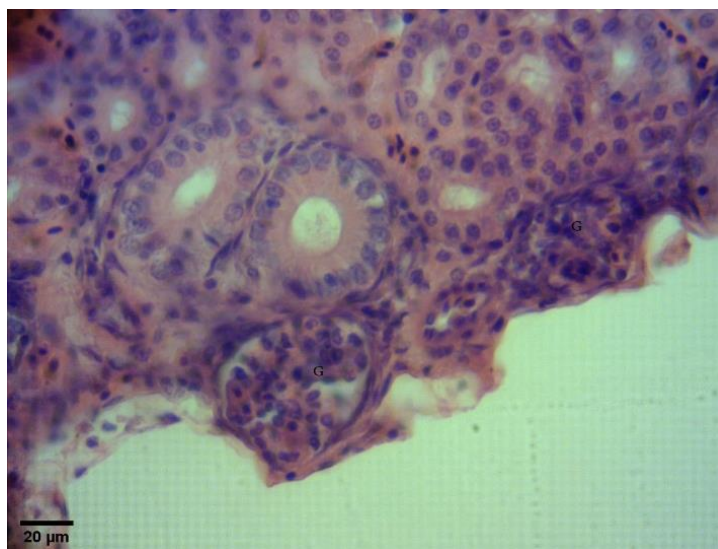
به منظور مطالعات بافت‌شناسی از هر آکواریوم نمونه‌های کلیه جداسازی و در محلول فرمالین درصد تثبیت و به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار منتقل شد. بافت‌ها تحت روش‌های پردازش متداول شامل شستشو، آب‌گیری، شفاف‌سازی و بلوک‌گیری قرار گرفتند و در نهایت مقاطع نازک به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. مقاطع در زیر میکروسکوپ نوری مطالعه و تصاویر توسط دوربین دیجیتال (Dino-Lite، آمریکا) تهیه شد (Koohkan et al., 2014).

بررسی بیوشیمیایی

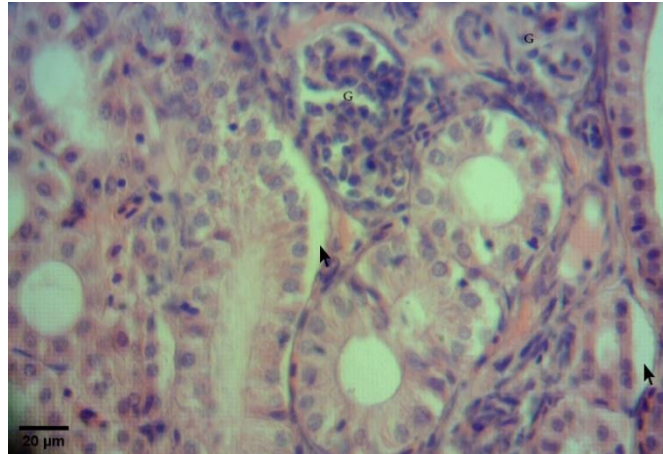
به منظور انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی، خون‌گیری پس از بیهوشی ماهیان با پودر گل

پاراکوات افزایش نشان دادند به طوری که شدیدترین تغییرات در غلظت ۷۵ درصد غلظت کشنده مشاهده شد. در این تیمار تغییراتی مانند چروکیدگی شدید گلومرول و اتساع فضای بومن، تحلیل و تخریب اپیتلیوم توبول‌ها، اتساع رگ‌های خونی و پرخونی (شکل‌های ۴ و ۵) مشاهده شد. چروکیدگی توبول‌ها شدیدترین عارضه مشاهده شده بود به طوری که تقریباً تمامی توبول‌های ادراری از غشای پایه جدا شده بودند و قطر لومن آنها شدیداً کاهش یافته بود (شکل ۵).

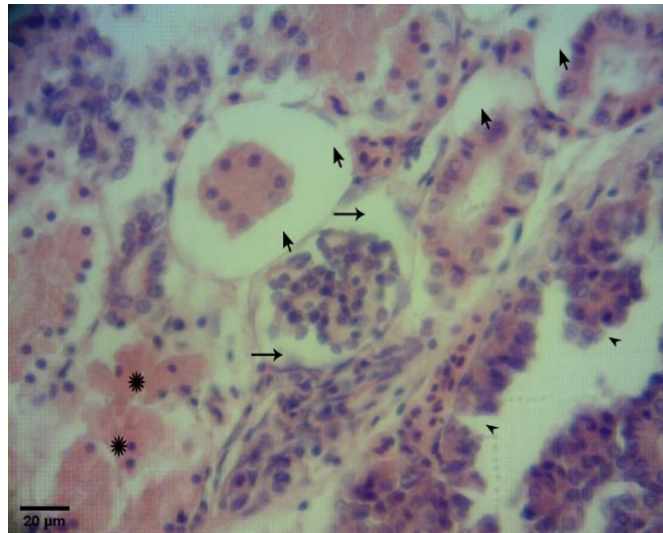
بافت بینابینی، گلومرول‌ها و توبول‌های کلیوی مشاهده نشد و ساختار کلیه طبیعی بود (شکل ۱). در گروه ماهیان مواجه شده با ۲۵ درصد غلظت کشنده پاراکوات به مدت ۹۶ ساعت، تنها در برخی نمونه‌ها مواردی از چروکیدگی توبول‌های کلیوی مشاهده شد (شکل ۲). چروکیدگی گلومرول و اتساع فضای ادراری، چروکیدگی توبول‌های کلیوی، تحلیل و تخریب اپیتلیوم توبول‌ها و افزایش ماکروفاژها تغییرات مشاهده شده در کلیه ماهی بنی مواجه شده با ۵۰ درصد غلظت کشنده پاراکوات بود (شکل ۳). صدمات کلیوی با افزایش غلظت مواجهه با



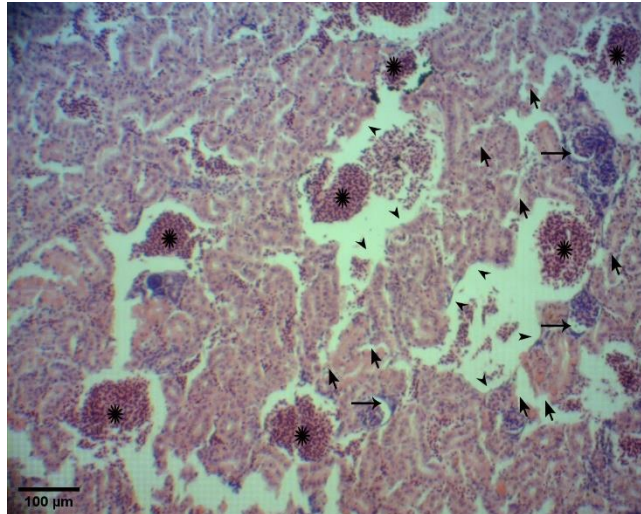
شکل ۱: مقطع میکروسکوپی از کلیه ماهی بنی گروه شاهد هیچگونه ضایعه خاصی را نشان نداد. توبول‌های کلیوی و گلومرول (G) ساختار طبیعی داشتند. رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین.



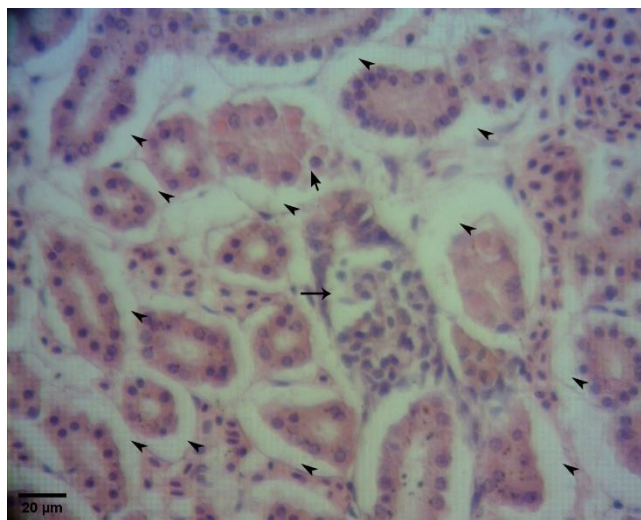
شکل ۲: مقطع میکروسکوپی از کلیه ماهی بنی مواجه شده با ۲۵ درصد غلظت کشنده (۰/۳۸ میلی گرم در لیتر) پاراکوات آسیب شناسی شدید نشان نداد، اما در بعضی از نمونه‌ها جمع شدگی توپول‌های کلیوی (پیکان) مشاهده شد. G: گلومرول. رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین.



شکل ۳: مقطع میکروسکوپی از کلیه ماهی بنی مواجه شده با ۵۰ درصد غلظت کشنده (۰/۷۶ میلی گرم در لیتر) پاراکوات که در آن چروکیدگی گلومرول (پیکان‌های بزرگ)، جمع شدگی توپول‌های کلیوی (پیکان‌های کوچک)، تحلیل و تخریب اپیتلیوم توپول‌ها (نوک پیکان) و افزایش ماکروفاژها (ستاره) مشاهده شد. رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین.

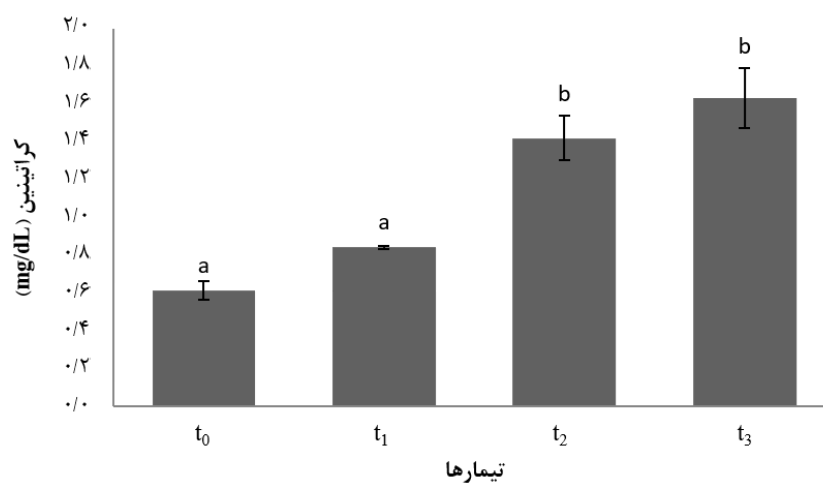


شکل ۴: مقطع میکروسکوپی از کلیه ماهی بنی مواجه شده با ۷۵ درصد غلظت کشنده (۱/۱۴ میلی‌گرم در لیتر) پاراکوات. صدماتی مانند چروکیدگی گلومرول (پیکان‌های بزرگ)، تحلیل و تخریب اپیتلیوم توبول‌ها (پیکان‌های کوچک)، اتساع رگ‌های خونی (نوک پیکان) و پرخونی (ستاره‌ها) مشاهده شد. رنگ آمیزی هماتوکسیلین وائوزین.

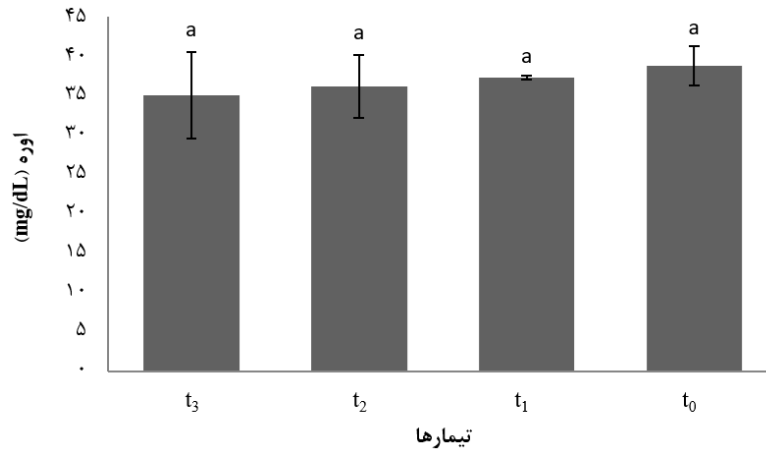


شکل ۵: مقطع میکروسکوپی از کلیه ماهی بنی مواجه شده با ۷۵ درصد غلظت کشنده (۱/۱۴ میلی‌گرم در لیتر) پاراکوات. صدمات شدید مانند چروکیدگی توبول‌های کلیوی (نوک پیکان)، چروکیدگی گلومرول (پیکان بزرگ) و تحلیل و تخریب اپیتلیوم توبول‌ها (پیکان کوچک) مشاهده شد. رنگ آمیزی هماتوکسیلین وائوزین.

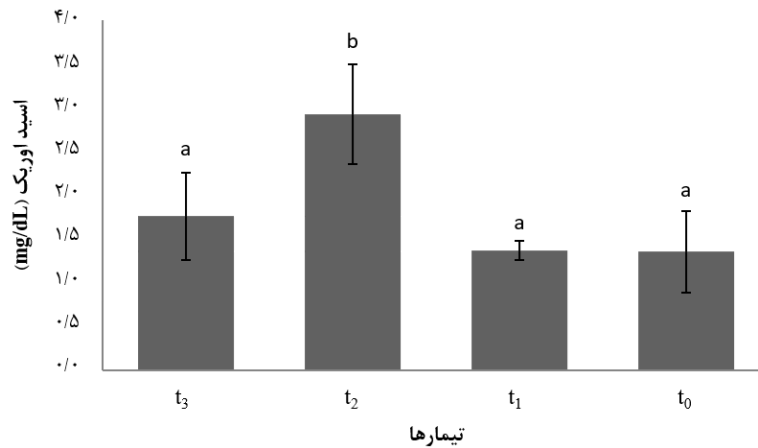
بررسی میزان کراتینین سرم در گروه‌های مختلف نشان دهنده تغییرات معنادار در تیمارهای t_2 (۵۰ درصد) و t_3 (۷۵ درصد) بود که نسبت به گروه شاهد (t.) افزایش معنی‌دار نشان دادند ($P < 0.05$)، اما افزایش در گروه t_1 (۲۵ درصد) معنادار نبود ($P > 0.05$ ؛ شکل ۶). میزان اوره، تغییرات آماری معنی‌داری نشان نداد ($P > 0.05$) و به عبارتی تغییرات غلظت پاراکوات (۸).



شکل ۶: مقایسه سطح سرمی کراتینین در ماهی بنی (میانگین \pm خطای استاندارد). حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).



شکل ۷: مقایسه سطح سرمی اوره در ماهی بنی (میانگین \pm خطای استاندارد). حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).



شکل ۸: مقایسه سطح سرمی اسید اوریک در ماهی بنی (میانگین \pm خطای استاندارد). حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

بحث
 غیرهدف می‌توانند تحت تاثیر این مواد قرار بگیرند و دچار صدمات ناخواسته و غیرقابل جبران شوند. از طرف دیگر قرار گرفتن انسان در قرار گرفتن در معرض علف‌کش‌ها بسیار مهم است زیرا آنها مواد خطرناکی هستند و موجودات

صدمات ناشی از آلاینده‌ها در آن بروز می‌کند (Thophon et al., 2003)، زیرا خون را از آبشش‌ها دریافت می‌کند و به عنوان یک اندام دفعی برای از بین بردن مواد زائد، متابولیسم و سم‌زدایی عمل می‌کند (Jeziarska and Witeska, 2006). استرس اکسیداتیو یکی دیگر از پیامدهای مهم سمیت پاراکوات در ماهی است که به دلیل ایجاد گونه‌های اکسیژن فعال ایجاد شده و از طریق افزایش استرس اکسیداتیو باعث تشدید صدمات ناشی از مواجهه با پاراکوات می‌شود (Ballesteros et al., 2009). بنابراین نشانگرهای زیستی مانند تغییرات بافتی و همچنین آنزیم‌های کلیدی می‌توانند تا حدودی این صدمات را نشان دهند.

مطالعه حاضر نشان داد که مواجهه با پاراکوات در غلظت‌های بالا شدیداً ساختار کلیه را دچار صدمه کرد و سلامت کلی جانور را تحت تاثیر قرار داد. تغییراتی مانند چروکیدگی شدید گلومرول و اتساع فضای بومن، تحلیل و تخریب اپیتلیوم توبول‌ها، اتساع رگ‌های خونی، پرخونی در مواجهه با پاراکوات مشاهده شد، به طوری که تقریباً تمامی توبول‌های ادراری از غشای پایه جدا شد و قطر لومن آنها شدیداً کاهش یافت. Kathiresan و Kannan (۲۰۰۲)، Dumitrescu و همکاران (۲۰۱۰)،

معرض سمومی مانند پاراکوات می‌تواند منجر به جذب از طریق استنشاق شده و در نتیجه به دلیل آسیب حاد ریه و فیبروز ریوی منجر به مرگ شود (Bonilla et al., 2006; Dinis-Oliveira et al., 2008). در این مطالعه مواجهه کوتاه مدت برای ارزیابی اثرات پاراکوات بر ساختار کلیه ماهی بنی بررسی شد. در سم‌شناسی محیطی، غلظت کشنده ۹۶ ساعته یکی از باارزش‌ترین شاخص‌ها برای ارزیابی اثرات سمی آلاینده‌ها است (Christopher et al., 2015). سمیت یک آفت‌کش برای یک جاندار تحت تاثیر سوبه‌های گونه، اندازه، سن، جنس، دما، کیفیت آب و فرمول مواد شیمیایی مورد آزمایش قرار می‌گیرد (Nwani et al., 2013). مطالعات فراوان اثرات سمی پاراکوات در ماهی را ثابت کرده است (Koochkan et al., 2014; Das et al., 2020; Gao et al., 2020). مطالعات نشان داده است که پاراکوات پس از ورود به بدن ماهی وارد کلیه شده و در آنجا بالاترین غلظت را دارد و در نتیجه عملکرد کلیه را مختل می‌کند (Cocheme and Murphy, 2008; Ienaga and Yokozawa, 2011). کلیه به عنوان یکی از اولین اندام‌هایی در نظر گرفته می‌شود که در صورت آلوده شدن آب، دچار اثرات نامطلوب می‌شود و

همسو با نتایج Deivasigamani (۲۰۱۵) بود که در کلیه ماهی کپور معمولی در مواجهه با علفکش‌ها گزارش کرده است. در مطالعه حاضر تحلیل و انسداد لومن توبولار مشاهده شد که این ضایعات توسط Hassan و همکاران (۲۰۱۵) در مواجهه ماهی کپور معمولی با پاراکوات گزارش شد. این ضایعات نشان دهنده پاسخ عملکردی ماهی نسبت به محیط سمی است که در آن مرگ به دلیل ناتوانی در سازگاری اتفاق می‌افتد. تحلیل توبول‌های کلیوی، نکرروز بافت خونساز، واکوئل شدن، وجود فضای سینوسی، نکرروز توبولار، آسیب سلول‌های اپیتلیال توبول‌های کلیوی و افزایش فضای بومن منجر به گلومرولواسکلروز در کلیه می‌شود (Gupta et al., 2016). فرآیند انحطاط همراه با تغییراتی مانند تحلیل توبولی، تغییر در عرض مویرگ‌ها، افزایش قطر کپسول بومن و تغییر در سلول‌ها در کلیه مشاهده می‌شود (Badroo et al., 2020). ساختار توبولار به دلیل رسوب سیتوپلاسم و بافت‌مردگی از بین می‌رود و کاهش ابعاد گلومرول و افزایش ابعاد کپسول بومن در *Channa punctatus* مشهود بود که توسط Banerjee و Bhattacharya (۱۹۹۴) مشاهده شد. از طرف دیگر عدم فعالیت برخی ساز و کارهای آنتی‌اکسیدانی در بافت کبد و Patnaik و همکاران (۲۰۱۱) و Sayrafi و همکاران (۲۰۱۱) نتایج مشابهی را گزارش کردند که با مشاهدات این مطالعه همسو بود. Norhan و همکاران (۲۰۲۲) در مواجهه ماهی آناباس (*Anabas testudineus*) با پاراکوات به مدت ۹۶ ساعت تغییراتی مانند انحطاط هیدروپیک خفیف تا متوسط سلول‌های اپیتلیال توبولی، هیپرپلازی خفیف سلول‌های خونساز با پیکنوز هسته‌ای متوسط و نکرروز اپیتلیال توبولار را مشاهده کردند. همچنین آنها گزارش کردند که قرار گرفتن کوتاه مدت در معرض پاراکوات منجر به تغییرات ساختاری کلیوی مانند فضای گلومرولی و کپسول بومن، و توبول‌های پیچیده دور و نزدیک می‌شود و افزایش غلظت پاراکوات باعث افزایش شدت تمام صدمات کلیه می‌شود (Norhan et al., 2022). این تغییرات نشانه محکمی از استرس ناشی از سمیت است (Yeganeh et al., 2016). انقباض گلومرولی ممکن است عملکرد کلیه را مختل کند و فعالیت فیلتراسیون گلومرولی و دفع دچار اختلال می‌شود (Norhan et al., 2022). در نتیجه ممکن است منجر به تجمع مواد سمی در اندام کلیه و نارسایی عملکرد آن شود (Palermo et al., 2015). تحلیل و تخریب اپیتلیوم توبولی و اتساع توبول‌ها که در این مطالعه مشاهده شد

(۲۰۰۶) گزارش کردند عملکرد کلیه با فعالیت مغز مرتبط است و بیماری مزمن کلیه منجر به بیماری آلزایمر می‌شود. از این رو، ارتباط بین اختلال عملکرد کلیه و بیماری آلزایمر شناسایی شده است (Shi et al., 2018). از طرفی بافت کلیه در مواجهه با پاراکوات به شدت تغییر می‌کند و بر عملکرد آن نیز تاثیر می‌گذارد. بنابراین می‌توان بین مواجهه با پاراکوات و بیماری‌هایی مانند آلزایمر یک پیوند ایجاد کرد. در مجموع، نتایج به وضوح نشان دهنده اثرات سمی پاراکوات در ماهی بنی بوده و ساختار بافتی کلیه را تغییر داده است. تغییرات بافتی ناشی از مواجهه وابسته به غلظت بود و این احتمال وجود دارد که این تغییرات در اندام‌های حیاتی منجر به اختلال در عملکرد تنفس، دفع و تنظیم متابولیک شده باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که پاراکوات برای موجودات آبی بویژه ماهی خطرناک است. پیشنهاد می‌شود استفاده حساب شده از پاراکوات بویژه در مزارع کشاورزی نزدیک‌تر به آب‌ها انجام شود.

کلیه می‌تواند باعث تخریب غشای پایه گلومرول‌های کلیوی شده و به عنوان عامل اصلی آسیب به بافت کلیه محسوب شود (Harris et al., 2004). در ماهیان کراتین بیش از نیمی از نیتروژن موجود در ادرار را تشکیل می‌دهد و از طریق کلیه‌ها دفع می‌شود. کراتینین نیز در اثر حلقوی شدن غیرآنزیمی کراتین به وجود می‌آید و زمانی که کراتینین تشکیل شد، دیگر متابولیزه نمی‌شود و به همان صورت از طریق کلیه‌ها دفع می‌شود (Morovvati et al., 2017). نوکلئوتیدهای پورینی و کاتابولیسم پروتئین‌ها در ماهیان می‌تواند اسید اوریک تولید کند که در کبد و کلیه تبدیل به اوره شده و از طریق آبشش‌ها دفع می‌شود. بنابراین تغییر در سطح اوره لزوماً شاخص بیماری کلیوی نبوده و به احتمال قوی با بیماری آبشش‌ها یا کبد نیز در ارتباط است. از این رو، دلیل کافی برای افزایش کراتینین سرم در مواجهه با پاراکوات می‌تواند کاهش میزان دفع آن از طریق ادرار باشد، همچنین کاهش سطح اوره نیز احتمالاً به دلیل افزایش دفع آن از طریق آبشش‌ها است (Safi et al., 2011). Farag و همکاران

منابع

- Badroo I.A., Nandurkar H.P. and Khanday A.H. 2020.** Toxicological impacts of herbicide paraquat dichloride on histological profile (gills, liver, and kidney) of freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch). *Environmental Science and Pollution Research*, 27: 39054–39067. doi: 10.1007/s11356-020-09931-6
- Ballesteros M.L., Wunderlin D.A. and Bistoni M.A. 2009.** Oxidative stress responses in different organs of *Jenynsia multidentata* exposed to endosulfan. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(1): 199–205. doi: 10.1016/j.ecoenv.2008.01.008
- Banerjee S. and Bhattacharya S. 1994.** Histopathology of kidney of *Channa punctatus* exposed to chronic nonlethal level of Elsan, mercury, and ammonia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 29(3): 265–275. doi: 10.1016/0147-6513(94)90003-5
- Bonilla E., Medina-Leendertz S., Villalobos V., Molero L. and Bohorquez A. 2006.** Paraquat-induced oxidative stress in *Drosophila melanogaster*: Effects of melatonin, glutathione, serotonin, minocycline, lipoic acid and ascorbic acid. *Neurochemical Research*, 31: 1425–1432. doi: 10.1007/s11064-006-9194-8
- Chia L.S., McRae D.G. and Thompson J.E. 1982.** Light-dependence of paraquat-initiated membrane deterioration in bean plants. Evidence for the involvement of superoxide. *Physiologia Plantarum*, 56(4): 492–509. doi: 10.1111/j.1399-3054.1982.tb04545.x
- Christopher D.W., Henry I.E., Vincent C.E., Christopher C.O., Christian O.C. and Onas S.P. 2015.** Physiological effects of paraquat in juvenile African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). *Journal of Coastal Life Medicine*, 3(1): 35–43. doi: 10.12980/JCLM.3.2015JCLM-2014-0113
- Cocheme H.M. and Murphy M.P. 2008.** Complex I is the major site of mitochondrial superoxide production by paraquat. *Journal of Biological Chemistry*, 283(4): 1786–1798. doi: 10.1074/jbc.M708597200
- Das P., Das M., Kalita A. and Chutia P. 2020.** Studies on toxicological effect of the herbicide paraquat dichloride on the air breathing singhi catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Proceedings of the Zoological Society*, 73: 406–417. doi: 10.1007/s12595-020-00346-2
- Deivasigamani S. 2015.** Effect of herbicides on fish and histological evaluation of common carp

- (*Cyprinus carpio*). International Journal of Applied Research, 1(7): 437–440.
- Di Marzio W.D. and Tortorelli M.C. 1994.** Effects of paraquat on survival and total cholinesterase activity in fry of *Cnesterodon decemmaculatus* (Pisces, Poeciliidae). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 52: 274–278. doi: 10.1007/BF00198499
- Dinis-Oliveira R.J., Duarte J.A., Sanchez-Navarro A., Remiao F., Bastos M.L. and Carvalho F. 2008.** Paraquat poisonings: Mechanisms of lung toxicity, clinical features, and treatment. Critical Reviews in Toxicology, 38: 13–71. doi: 10.1080/10408440701669959
- Dumitrescu G., Petculescu Ciochina L., Voia S., Dronca D. and Boca L. 2010.** Histological changes induced in gonads, liver and kidney of zebra fish (*Danio rerio*) under the effect octylphenol (OP). Animal Science and Biotechnologies, 43(1): 484–489.
- Ensibi C., Perez-Lopez M., Soler Rodriguez F., Miguez-Santiyan M.P., Yahya M.N. and Hernandez-Moreno D. 2013.** Effects of deltamethrin on biometric parameters and liver biomarkers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Environmental Toxicology and Pharmacology, 36: 384–391. doi: 10.1016/j.etap.2013.04.019
- Farag A.M., May T., Marty G.D., Easton M., Harper D.D., Little E.E. and Cleveland L. 2006.** The effect of chronic chromium exposure on the health of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Aquatic Toxicology, 76(3-4): 246–257. doi: 10.1016/j.aquatox.2005.09.011
- Gao L., Yuan H., Xu E and Liu J. 2020.** Toxicology of paraquat and pharmacology of the protective effect of 5-hydroxy-1-methylhydantoin on lung injury caused by paraquat based on metabolomics. Scientific Reports, 10(1): 1–16 (1790). doi: 10.1038/s41598-020-58599-y
- Gupta Y.R., Sellegounder D., Kannan M., Deepa S., Senthilkumaran B. and Basavaraju Y. 2016.** Effect of copper nanoparticles exposure in the physiology of the common carp (*Cyprinus carpio*): Biochemical, histological and proteomic approaches. Aquaculture and Fisheries, 1: 15–23. doi: 10.1016/j.aaf.2016.09.003
- Harris C., Dixon M. and Hansen J.M. 2004.** Glutathione depletion modulates methanol, formaldehyde and formate toxicity in cultured rat conceptuses. Cell Biology and Toxicology, 20: 133–145. doi: 10.1023/B:CBTO.0000029466.08607.86

- Hassan M., Shah Norhan N.A., Mohd Daud H., Chong J.L., Abd Halim Shah M.M. and Karim N.U. 2015.** Behavioral and histopathological changes of common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to paraquat. *Journal of Fisheries and Livestock Production*, 3: 1–3. doi: 10.4172/2332-2608.1000131
- He X., Wang L., Szklarz G., Bi Y. and Ma Q. 2012.** Resveratrol inhibits paraquat induced oxidative stress and fibrogenic response by activating the nuclear factor erythroid 2-related factor 2 pathway. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 342: 81–90. doi: 10.1124/jpet.112.194142
- Ienaga K. and Yokozawa T. 2011.** Creatinine and HMH (5-hydroxy-1-methylhydantoin, NZ-419) as intrinsic hydroxyl radical scavengers. *Drug Discoveries and Therapeutics*, 5(4): 162–175. doi: 10.5582/ddt.2011.v5.4.162
- Ienaga K., Sohn M., Naiki M. and Jaffa A.A. 2014.** Creatinine metabolite, HMH (5-hydroxy-1-methylhydantoin; NZ-419), modulates bradykinin-induced changes in vascular smooth muscle cells. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 34(3): 195–200. doi: 10.3109/10799893.2013.876039
- Jeziarska B. and Witeska M. 2006.** The metal uptake and accumulation in fish living in polluted waters. *Soil and Water Pollution Monitoring, Protection and Remediation*, 69: 107–114. doi: 10.1007/978-1-4020-4728-2_6
- Kannan C. and Kathiresan R. 2002.** Herbicide control of water hyacinth and its impact on fish growth and water quality. *Indian Journal of Weeds Science*, 34(1-2): 92–95.
- Koohkan O., Abdi R., Salighehzadeh R. and Jaddi Y. 2014.** Histopathological study on sub-acute toxicity of paraquat on liver of benny fish fingerling (*Barbus sharpeyi*) (In Persian). *Journal of Comparative Pathobiology*, 11 (1): 1167–1172.
- Koohkan O., Morovvati H. and Taheri Mirghaed A. 2024.** Histomorphological study and biochemical changes in kidney of gray mullet (*Mugil cephalus*) exposed to iron oxide nanoparticles and *Spirulina platensis*. *Iranian Veterinary Journal*, 19(4): 120–131. doi: 10.22055/IVJ.2022.328211.2442
- Marin-Morales M.A., Ventura-Camargo B.D. and Hoshina M.M. 2013.** Toxicity of herbicides: Impact on aquatic and soil biota and human health. *Herbicides-Current Research and Case Studies in Use*, 10: 399–443. doi: 10.5772/55851
- Morovvati H., Abdi R. and Shamsi M.M. 2017.** Effect of different salinity concentration on kidney of

- benni, *Barbus sharpeyi*. Iranian Scientific Fisheries Journal, 25(5): 159–164. doi: 10.22092/ISFJ.2017.110322
- Norhan N.A., Zakariah M.I., Karim N.U., Daud H.M., Melad A.A., Yusoff N.A. and Hassan M.A. 2022.** Paraquat-induced histopathological changes on the gills, kidney and liver tissues of *Anabas testudineus* (Bloch, 1792). Journal of Sustainability Science and Management, 17: 165–174. doi: 10.46754/jssm.2022.08.010
- Nwani C.D., Ama U.I., Okoh F., Oji U.O., Ogbonyealu R.C., Agha-Ibiam A. and Udo-Ibiam O. 2013.** Acute toxicity of the chloroacetanilide herbicide butachlor and its effects on the behavior of the freshwater fish *Tilapia zillii*. African Journal of Biotechnology, 12: 499–503. doi: 10.5897/AJB12.2433
- Palermo F.F., Risso W.E., Simonato J.D. and Martinez C.B. 2015.** Bioaccumulation of nickel and its biochemical and genotoxic effects on juveniles of the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 116: 19–28. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.02.032
- Patnaik B.B., Howrelia H., Mathews T. and Selvanayagam M. 2011.** Histopathology of gill, liver, muscle and brain of *Cyprinus carpio communis* L. exposed to sublethal concentration of lead and cadmium. African Journal of Biotechnology, 10(57): 12218–12223. doi: 10.5897/AJB10.1910
- Rahman M.Z., Hossain Z.M., Ellah M.F.R. and Ahmed G.U. 2002.** Effect of diazinon 60 EC on *Anabas testudineus*, *Channa punctatus* and *Barbodes gonionotus*. NAGA, 25: 8–11.
- Safi S., Mojabi A., Atyabi N., Khaki Z., Khajeh G.H., Saberi Shakib J., Mohammad Sadegh M., Khazraeinia P., Nazifi Habib Ababdi S., Mehri M., Rashidinia M.R. and Pourkabir M. 2011.** Veterinary Clinical Biochemistry (In Persian). Nourbakhsh Press, Iran. 512P.
- Sayrafi R., Najafi G., Rahmati-Holasoo H. and Ghadam M. 2011.** Histological study of hepatopancreas in hi fin pangasius (*Pangasius sanitwongsei*). African Journal of Biotechnology, 10(17): 34–63. doi: 10.5897/AJB10.1054
- Shi Y., Liu Z., Shen Y. and Zhu H. 2018.** A novel perspective linkage between kidney function and Alzheimer's disease. Frontiers in Cellular Neuroscience, 29(12): 1–8. doi: 10.3389/fncel.2018.00384
- Thophon S., Kruatrachue M., Upatham E.S., Pokethitiyook P., Sahaphong S. and Jaritkhuan S. 2003.** Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. Environmental

Pollution, 121(3): 307–320. doi: 10.1016/S0269-7491(02)00270-1

Tortorelli M.C., Hernandez D.A., Rey Vazquez G. and Salibian A. 1990. Effects of paraquat on mortality and cardiorespiratory function of catfish fry *Plecostomus commersoni*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 19: 523–529. doi: 10.1007/BF01059071

Tsai W.T. 2013. A review on environmental exposure and health risks of herbicide paraquat.

Environmental Toxicology and Chemistry, 95: 197–206. doi: 10.1080/02772248.2012.761999

Yeganeh S., Adel M., Ahmadvand S., Ahmadvand S. and Velisek J. 2016. Toxicity of organic selenium (Selemax) and its effects on haematological and biochemical parameters and histopathological changes of common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758). Toxin Reviews, 35(3-4): 207–213. doi: 10.1080/15569543.2016.1213749



Research Paper

Study of sublethal concentrations of paraquat herbicide on tissue and kidney factors of *Barbus sharpeyi*

Omid Koohkan^{1*}

DOI: 10.22124/japb.2023.24617.1498

Received: June 2023

Accepted: July 2023

Abstract

According to high solubility and frequent use of paraquat, large amounts of it can penetrate into surface waters through runoff and have destructive effects on living organisms. Therefore, in the present study, the toxic effects of paraquat on the kidney and the its functional factors, including creatinine, urea, and uric acid, were investigated in benny fish (*Barbus sharpeyi*). 40 benny fish were divided into 4 treatments including 0% (control, t_0), 25% (t_1), 50% (t_2) and 75% (t_3) paraquat lethal concentration (0, 0.38, 0.76, and 1.14mg/L, respectively). After 96 hours of exposure, kidney tissue samples were taken for tissue studies and blood serum sampled to check changes in kidney functional factors. Injuries such as shriveling of glomerulus and renal tubules, hyperemia, destruction of tubule epithelium, dilation of urinary space and decrease in the lumen diameter of urinary tubules were seen in exposure to paraquat. Creatinine in groups t_2 and t_3 and uric acid in t_1 showed significant changes compared to the control group ($P<0.05$). As the concentration increased, paraquat caused more severe and widespread damage in the kidney. The results showed severe destruction of kidney tissue in the group t_3 , and as a result, creatinine also increased.

Key words: *Paraquat, Benny Fish, Kidney, Sublethal Concentration.*

1- Assistant Professor in Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.

*Corresponding Author: O.koohkan@cmu.ac.ir